

Troponin T cao hơn ở nhóm bệnh nhân có tắc nghẽn hoàn toàn mạch vành.

- Nhánh mạch vành thủ phạm thường gặp nhất ở nhóm có tắc nghẽn là động mạch vành phải.

Các dấu hiệu điện tâm đồ gợi ý tắc nghẽn cho kết quả độ nhạy 63,6%, độ đặc hiệu 93,3%, giá trị tiên đoán dương là 85,9%, giá trị tiên đoán âm là 80% và AUCROC là 0,785 cho thấy giá trị chẩn đoán cao trong nhóm bệnh nhân này.

Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin quan trọng giúp nhận diện sớm bệnh nhân có nguy cơ tắc nghẽn cao, từ đó can thiệp kịp thời hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, et al.** Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. Mar 3 2020;141(9):e139-e596. doi:10.1161/CIR.0000000000000757
2. **De Luca G, Suryapranata H, Ottervanger JP, Antman EM.** Time delay to treatment and mortality in primary angioplasty for acute myocardial infarction: every minute of delay counts. *Circulation*. Mar 16 2004;109(10):1223-5. doi:10.1161/01.CIR.0000121424.76486.20
3. **Khan AR, Golwala H, Tripathi A, et al.** Impact of total occlusion of culprit artery in acute non-ST elevation myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J*. Nov 1

2017;38(41):3082-3089.

doi:10.1093/eurheartj/ehx418

4. **Pendell Meyers H, Bracey A, Lee D, et al.** Accuracy of OMI ECG findings versus STEMI criteria for diagnosis of acute coronary occlusion myocardial infarction. *Int J Cardiol Heart Vasc*. Apr 2021;33:100767. doi:10.1016/j.ijcha.2021.100767
5. **Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al.** Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. Sep 11-17 2004;364(9438):937-52. doi:10.1016/S0140-6736(04)17018-9
6. **Baro R, Haseeb S, Ordóñez S, Costabel JP.** High-sensitivity cardiac troponin T as a predictor of acute Total occlusion in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Clin Cardiol*. Feb 2019;42(2):222-226. doi:10.1002/clc.23128
7. **Mortensen MB, Nordestgaard BG.** Elevated LDL cholesterol and increased risk of myocardial infarction and atherosclerotic cardiovascular disease in individuals aged 70-100 years: a contemporary primary prevention cohort. *Lancet*. Nov 21 2020;396(10263):1644-1652. doi:10.1016/S0140-6736(20)32233-9
8. **Gokhroo RK, Ranwa BL, Kishor K, et al.** Sweating: A Specific Predictor of ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Among the Symptoms of Acute Coronary Syndrome: Sweating In Myocardial Infarction (SWIMI) Study Group. *Clin Cardiol*. Feb 2016;39(2):90-5. doi:10.1002/clc.22498

NGHIÊN CỨU TẠO HẠT XƯƠNG BÒ VÔ BÀO HƯỚNG TỚI LÀM VẬT LIỆU GHEP XƯƠNG TRONG NHA KHOA

Bùi Cúc^{1,2}, Tô Minh Quân³, Nguyễn Thị Ngọc Mỹ³, Hoàng Minh Thạch²,
Lê Nguyễn Lâm¹, Lê Minh Thuận⁴, Bùi Hoàng Minh Phước¹,
Bùi Hoàng Minh Đức¹, Trần Lê Bảo Hà³, Nguyễn Văn Lâm¹

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Hiện nay ở Việt Nam, vật liệu ghép xương sử dụng trong nha khoa được nhập khẩu từ nước ngoài. **Mục tiêu nghiên cứu:** Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành tạo hạt xương bò bằng phương pháp khử tế bào hướng tới làm vật liệu ghép xương. **Vật liệu và phương pháp nghiên cứu:** Xương xốp ở 2 đầu xương đùi bò được cắt và khử tế

bào bằng 50% methanol/50% chloroform (MC) trong 6 giờ hoặc 24 giờ kết hợp với sodium dodecyl sulfate (SDS) 0,15% hoặc nước cất trong 24 giờ. Hiệu quả khử tế bào được đánh giá bằng phương pháp nhuộm H&E, DAPI. Độc tính tế bào được đánh giá theo tiêu chuẩn ISO 10993-5. **Kết quả:** Kết quả cho thấy sự kết hợp MC 6 giờ và SDS 0,15% 24 giờ đã tạo ra được hạt xương xốp vô bào (dCB). Hạt xương dCB không gây độc cho tế bào L-929 theo tiêu chuẩn ISO 10993-5. **Kết luận:** đã tạo thành công hạt xương xốp vô bào có tiềm năng ứng dụng làm vật liệu ghép nha khoa.

Từ Khóa: xương xốp, khử tế bào, methanol/chloroform, SDS, ISO 10993-5

SUMMARY

STUDY ON CREATING ACELLULAR BOVINE BONE GRANULES USED FOR DENTAL BONE GRAFTING

Background: In Vietnam, bone grafts used in dental implants are imported from foreign countries.

¹Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

²Nha khoa Thẩm mỹ Châu Á

³Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP. HCM

⁴Bệnh Viên Đa khoa Trung ương Cần Thơ

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Văn Lâm

Email: nvlam@ctump.edu.vn

Ngày nhận bài: 6.12.2024

Ngày phản biện khoa học: 15.01.2025

Ngày duyệt bài: 12.2.2025

Objective: In this study, we aimed to make decellularized bovine bone granules applied in dental implant. **Materials and methods:** Bovine femoral cancellous bone was cut and decellularized by the combination of 50% methanol/50% chloroform (MC) for 6 or 24 hours and 0.15% sodium dodecyl sulfate (SDS)/distilled water for 24 hours. Decellularization was tested using Hematoxylin/Eosin and DAPI staining. In vitro cytotoxicity of decellularized bone granules was performed according to ISO 10993-5. **Results:** The results showed that the optimized decellularization method was the combination of 50% methanol/50% chloroform for 6 hours and 0.15% SDS for 24 hours. The acellular bone granules were not toxic to L-929 cells, according to ISO 10993-5. **Conclusion:** decellularized bone granules were successfully created, and they have the potential to be used as bone grafts.

Keywords: cancellous bone, decellularization, methanol/chloroform, SDS, ISO 10993-5

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ghép xương là phẫu thuật thường được tiến hành trong cấy ghép implant nha khoa. Vật liệu ghép xương được dùng để trám vào vị trí khuyết hổng nhằm tái tạo xương bị tiêu biến. Vật liệu ghép xương có thể là xương đồng loài hoặc dị loài như bò, heo hoặc xương nhân tạo [1]. Hiện nay, xương bò là một trong những nguồn vật liệu thường được sử dụng với nhiều hình dạng (tấm, hạt), kích cỡ khác nhau (1-2 mm, 0,25-1 mm). Nhiều sản phẩm xương xốp bò được thương mại hoá như OSSEOSEAL[®], Bio-Oss[®], Inter-Oss[®]... Xương bò có thể được xử lý theo nhiều cách như chiếu xạ, khử khoáng, khử tế bào. Đối với phương pháp khử tế bào, thành phần tế bào của xương dị loài/đồng loài được loại bỏ hoàn toàn để thu được chất nền xương tự nhiên (còn gọi là xương vô bào) [2]. Xương vô bào này được chứng minh là có khả năng kích tạo xương và dẫn tạo xương. Phương pháp khử tế bào xương xốp là một trong những hướng nghiên cứu quan trọng và đã xuất hiện nhiều sản phẩm ngoài thị trường như Puros[®] DBM, BioSet[™], Grafton[®], DBX[®]. Đây là phương pháp dễ thực hiện, có thể tiến hành với quy mô lớn và phù hợp với điều kiện Việt Nam [3].

Hiện nay, vật liệu ghép xương vẫn chưa được sản xuất thương mại ở Việt Nam, bao gồm cả xương xốp bò. Do đó, phẫu thuật ghép xương hoàn toàn lệ thuộc vào nguồn vật liệu ghép xương nhập khẩu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành tạo hạt xương bò bằng phương pháp khử tế bào với mục tiêu cung cấp thêm nguồn vật liệu ghép xương có thể sản xuất tại chỗ, sẵn sàng đáp ứng nhu cầu sử dụng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu. Xương đùi bò lai Sind trưởng thành 400-450 kg được thu nhận sau khi mổ tại lò mổ và vận chuyển về phòng thí nghiệm trong đá lạnh. Xương đùi bò được lọc bỏ tất cả phần thịt và rửa bằng dung dịch muối sinh lý NaCl 0,9% vô trùng. Sau đó, phần xương xốp ở 2 đầu xương đùi được thu nhận bằng cơ học và bảo quản trong dung dịch NaCl 0,9% chứa kháng sinh penicillin/streptomycin (pen/strep) 1% ở 4°C.

Tế bào L-929: tế bào nguyên bào sợi chuột được nuôi trong môi trường nuôi cấy (MTNC) bao gồm DMEM/F12, 10% huyết thanh bào thai bò (FBS), 1% kháng sinh pen/strep ở 37 °C, 5% CO₂.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp khử tế bào. Thí nghiệm được tiến hành dựa theo công trình của Trần Lê Bảo Hà và cộng sự [4], có biến đổi. Cụ thể, xương xốp bò được cắt thành những khối xương xốp nhỏ (kích thước nhỏ hơn 1 cm x 1 cm x 1 cm). Sau đó, những khối xương xốp được rửa sạch máu bằng cách lắc liên tục trong dung dịch đệm phosphate chứa kháng sinh pen/strep 1% (PBS-KS). Kế tiếp, xương xốp được lắc trong HCl 0,6 M trong 15 phút để khử khoáng một phần.

Để khử tế bào, xương xốp được xử lý theo 2 bước liên tục: bước 1 lắc trong dung dịch 50% methanol /50% chloroform (v/v) trong 6 giờ hoặc 24 giờ, bước 2: lắc trong dung dịch 0,15% (sodium dodecyl sulfate) SDS hoặc nước cất 24 giờ (Bảng 1).

Sau đó, xương xốp được rửa lại bằng nước cất 2 lần, đông khô và nghiền mịn, sàng lọc những hạt kích thước 1-2 mm. Hạt xương xốp được khử trùng bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma liều 25 kGy. Xương xốp khử tế bào hoàn toàn (còn gọi là xương xốp vô bào) được ký hiệu là dCB.

Bảng 1. Bố trí 2 bước trong thí nghiệm khử tế bào

Bước 1	Methanol/ chloroform 6 giờ (MC6)	Methanol/ chloroform 24 giờ (MC24)
Bước 2		
Nước cất	MC6-H ₂ O	MC24-H ₂ O
SDS	MC6-SDS	MC24-SDS

Đánh giá hiệu quả khử tế bào. Hiệu quả khử tế bào được đánh giá bằng các phương pháp nhuộm mô học Haematoxylin/Eosin (H&E), phương pháp nhuộm huỳnh quang nhân DAPI.

Đối với phương pháp nhuộm H&E, mẫu được cố định trong dung dịch NBF (neutral buffer formalin) và gửi tới Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch để tiến hành khử khoáng, cắt lát và nhuộm.

Đối với phương pháp nhuộm DAPI, bột xương mịn được nhuộm với DAPI theo hướng dẫn nhà sản xuất trong 30 phút (Sigma). Sau 30 phút, quan sát mẫu xương dưới kính hiển vi huỳnh quang ở bước sóng xanh. Nhân nếu tồn tại sẽ xuất hiện màu xanh dương.

Phương pháp đánh giá độc tính tế bào theo tiêu chuẩn ISO 10993-5

Phương pháp tiếp xúc trực tiếp. Phương pháp đánh giá trực tiếp được thể hiện trong hình 1A. Tế bào L-929 được cấy vào đĩa 4 giếng với mật độ ban đầu 4×10^4 tế bào/giếng, nuôi trong MTNC ở 37°C, 5% CO₂. Sau 1 ngày, thí nghiệm được chia thành 2 nhóm như sau:

- Nhóm thí nghiệm (TN): đĩa nuôi tế bào được đặt hạt dCB, nuôi ở 37°C, 5% CO₂
- Nhóm đối chứng âm (ĐC-): đĩa nuôi tiếp tục được nuôi cấy trong MTNC 37°C, 5% CO₂

Sau 1 ngày nuôi cấy, lấy dCB ra khỏi giếng nhóm TN và nhuộm tế bào 2 nhóm TN và ĐC- với thuốc nhuộm crystal violet để quan sát hình dạng tế bào và xác định sự bong tróc tế bào khỏi bề mặt nuôi cấy.

Phương pháp dịch chiết. Phương pháp đánh giá dịch chiết được thể hiện trong hình 1B. Hạt dCB được ngâm trong MTNC ở 37°C trong 2 ngày để thu dịch chiết. Tế bào L-929 được cấy vào đĩa 4 giếng với mật độ ban đầu 4×10^4 tế bào/giếng, nuôi trong MTNC ở 37°C, 5% CO₂. Sau 1 ngày, thí nghiệm được chia thành 3 nhóm như sau:

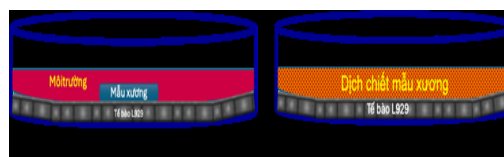
- Nhóm thí nghiệm: tế bào L-929 được nuôi trong dịch chiết của hạt dCB 37°C, 5% CO₂
- Nhóm đối chứng âm (ĐC-): tế bào L-929 được nuôi trong MTNC 37°C, 5% CO₂
- Nhóm đối chứng dương (ĐC+): tế bào L-929 được nuôi trong MTNC bổ sung 10% DMSO 37°C, 5% CO₂.

Sau 2 ngày, tiến hành thử nghiệm MTT để đánh giá tỉ lệ tăng trưởng tương đối của tế bào (RGR).

Phương pháp MTT tiến hành như sau: hút bỏ môi trường nuôi cũ, thêm môi trường DMEM mới chứa 0,5 mg/ml MTT và ủ ở 37°C trong vòng 3 giờ. Sau 3 giờ, dịch môi trường được loại bỏ hoàn toàn, tinh thể formazan hình thành trên đáy đĩa. Sau đó, DMSO được thêm vào để hoà tan tinh thể formazan và đo OD ở bước sóng 590 nm. Tỉ lệ tăng trưởng tương đối của tế bào RGR được xác định như sau:

$$\% \text{ RGR} = \text{OD}_{590\text{TN}} / \text{OD}_{590\text{ĐC-}}$$

Trong đó OD₅₉₀TN: giá trị OD bước sóng 590 nm của nhóm thí nghiệm; OD₅₉₀ĐC-: giá trị OD bước sóng 590 nm nhóm ĐC-



Hình 1. Mô hình thử nghiệm độc tính theo tiêu chuẩn ISO 10993-5. A: trực tiếp, B: dịch chiết

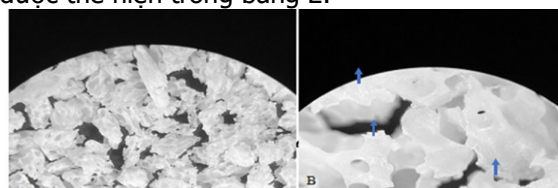
Thông kê: Số liệu trong nghiên cứu được trình bày dưới dạng mean ± SD. Tất cả thí nghiệm lặp lại ít nhất 3 lần, thống kê được xử lý theo so sánh one-way ANNOVA hoặc t-test bằng phần mềm GraphPad Prism.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

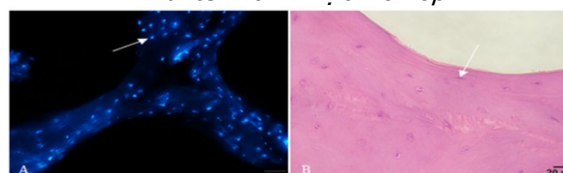
3.1. Kết quả khử tế bào hạt xương xốp.

Hình dạng ngoài của hạt xương sau khi khử tế bào ở các thí nghiệm tương tự nhau và được thể hiện ở hình 2. Hạt xương sau xử lý có kích thước 1-2 mm, màu trắng và có cấu trúc xốp (hình 1).

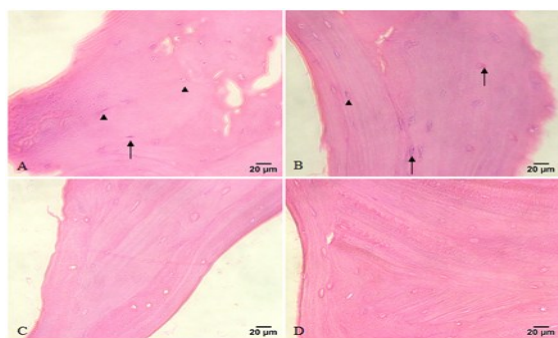
Kết quả nhuộm H&E và DAPI của xương xốp tự nhiên nCB được thể hiện trong hình 3. Kết quả nhuộm HE cho thấy nCB chứa nhiều cốt bào trong các hốc trong bê xương. Kết quả khử tế bào mẫu xương xốp được thể hiện trong hình 4. Sau khi khử tế bào, số lượng nhân tế bào trong mẫu giảm dần tùy theo thí nghiệm. Trong những thí nghiệm xử lý bằng methanol/chloroform và nước cất (MC6-H₂O, MC24-H₂O), số lượng nhân tế bào giảm mạnh so với đối chứng, không phát hiện tế bào ở vùng tuỷ xương, tuy nhiên nhiều bóng mờ nhân (nhân tế bào bị vỡ) tồn tại sâu trong các hốc xương. Đối với mẫu xử lý methanol/chloroform và SDS (MC6-SDS, MC24-SDS), hốc xương trống hoàn toàn, hầu như không thể phát hiện dấu vết nhân trong hốc xương và vùng tuỷ xương của các mẫu thí nghiệm. Tỉ lệ hốc xương còn bóng mờ nhân được thể hiện trong bảng 2.



Hình 2. Hạt xương xốp bỏ vỏ bào dCB. Mũi tên xanh: vị trí lỗ xốp



Hình 3. Kết quả nhuộm xương xốp tự nhiên (nCB) của bò. A: nhuộm DAPI, B: nhuộm H&E. Mũi tên trắng: nhân tế bào



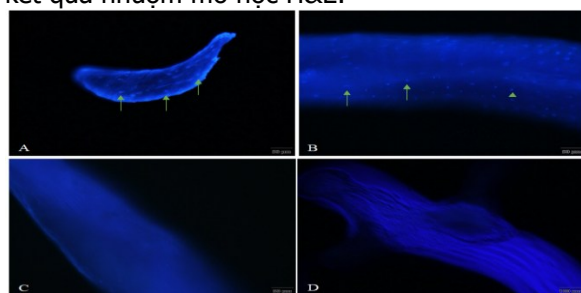
Hình 4. Kết quả nhuộm H&E xương xốp bò theo các nghiệm thức khử tế bào. A. MC6-H₂O, B. MC24-H₂O, C. MC6-SDS, D. MC24-SDS.

Bảng 2. Tỷ lệ hóc xương có vết nhân trong các nhóm thí nghiệm (%)

(thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi lần tiến hành nhuộm H&E 3 mẫu) (^a: sự khác biệt về mặt thống kê, p<0,05 trong cùng 1 hàng)

MC6-H ₂ O	MC24-H ₂ O	MC6-SDS	MC24-H ₂ O
22,4 ± 3,4 ^a	20,7 ± 2,3 ^a	Không phát hiện	Không phát hiện

Kết quả nhuộm DAPI thể hiện trong hình 5. Kết quả cho thấy ở nCB, nhân tế bào phát màu huỳnh quang xanh đậm tồn tại trong các bề xương (hình 3). Sau khi khử tế bào, số lượng nhân phát màu huỳnh quang giảm mạnh tùy theo thí nghiệm. Đối với thí nghiệm MC6-H₂O, MC24-H₂O, vết nhân nhỏ vẫn phát hiện trong bề xương (hình 5A, 5B). Đối với thí nghiệm MC6-SDS, MC24-SDS, không phát hiện nhân trong bề xương (hình 5C, 5D). Kết quả này tương tự với kết quả nhuộm mô học H&E.



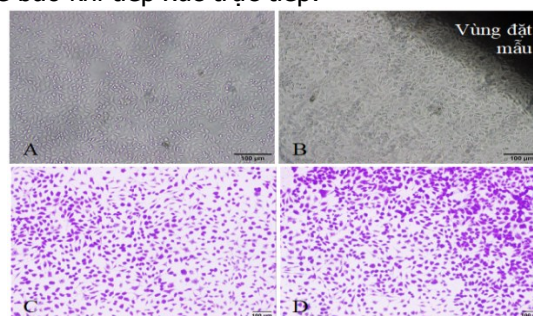
Hình 5. Kết quả nhuộm DAPI xương xốp bò. A. MC6- H₂O, B. MC24- H₂O, C. MC6-SDS, D. MC24-SDS.

Kết hợp kết quả nhuộm H&E và DAPI cho thấy phương pháp kết hợp methanol/chloroform và nước cất (MC6-H₂O, MC24-H₂O) chưa khử hoàn toàn tế bào trong xương xốp, phương pháp kết hợp methanol/chloroform và SDS (MC6-SDS, MC24-SDS) đã khử hoàn toàn tế bào trong xương xốp. Trong đó, phương pháp MC6-SDS có thời gian xử lý ngắn hơn so với MC24-SDS, do đó

phương pháp MC6-SDS được sử dụng để khử tế bào xương xốp. Hạt xương xốp được khử tế bào hoàn toàn được gọi là hạt xương xốp vô bào, ký hiệu là dCB.

3.2. Kết quả đánh giá độc tính tế bào theo tiêu chuẩn ISO 10993-5

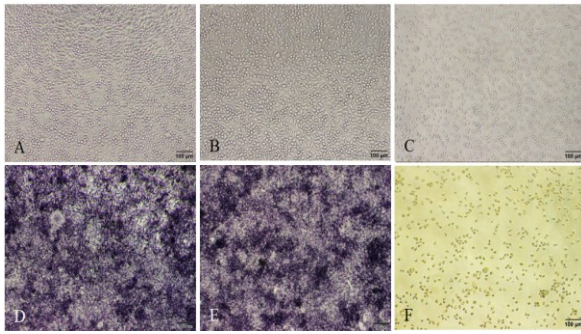
Phương pháp tiếp xúc trực tiếp. Đối với phương pháp đánh giá độc tính trực tiếp, hạt xương dCB được tiếp xúc trực tiếp trên tế bào L-929. Sau 1 ngày, sự biến đổi hình dạng tế bào được ghi nhận bằng phương pháp nhuộm crystal violet. Kết quả thử nghiệm cho thấy, sau 1 ngày, không phát hiện thấy tế bào bong tróc khỏi bề mặt nuôi cấy trong nhóm TN và nhóm ĐC- (hình 6B, 6A). Kết quả nhuộm crystal violet cho thấy tế bào xung quanh dCB vẫn duy trì hình dạng đặc trưng của nguyên bào sợi: thon dài và thuôn ở 2 đầu như trong nhóm đối chứng âm (nhóm tế bào nuôi trong MTNC) (hình 6C, 6D). Theo tiêu chuẩn ISO 10993-5, hạt dCB không gây độc cho tế bào khi tiếp xúc trực tiếp.



Hình 6. Kết quả đánh giá độc tính tế bào bằng phương pháp trực tiếp sau 1 ngày tiếp xúc.

A, C: nhóm ĐC-, B, D: nhóm TN

Phương pháp độc tính dịch chiết. Đối với phương pháp độc tính dịch chiết, hạt xương dCB được ngâm trong môi trường MTNC 2 ngày. Dịch chiết (dịch ngâm) dCB 2 ngày được sử dụng để nuôi tế bào L-929. Tỷ lệ tế bào sống/chết được xác định bằng phương pháp MTT. Đối với nhóm ĐC+ (tế bào nuôi trong MTNC chứa 10% DMSO), phần lớn tế bào bị co lại và bong tróc khỏi bề mặt nuôi cấy (hình 7C, F), tỷ lệ RGR nhóm ĐC+ là 13,5 ± 2,6%. Tế bào trong nhóm thí nghiệm (hình 7B, E) và nhóm ĐC- (hình 7A, D) rất ít có hiện tượng bong tróc. Gần như toàn bộ tế bào trong 2 nhóm trên vẫn bám dính và duy trì hình dạng ban đầu. Kết quả đánh giá MTT cho thấy tỷ lệ tăng trưởng tương đối của tế bào (RGR) của nhóm TN sau 2 ngày là 97,1 ± 3,9%. Theo tiêu chuẩn ISO 10993-5, tỷ lệ RGR cao hơn 70% thì vật liệu không gây độc tế bào. Do đó, dịch chiết hạt xương dCB không gây độc cho tế bào.



Hình 7. Kết quả đánh giá độc tính tế bào bằng phương pháp dịch chiết sau 2 ngày nuôi cấy.

A, D: nhóm DC-, B, E: nhóm TN, C, F: nhóm DC+

IV. BÀN LUẬN

Cấu tạo của xương bao gồm 2 thành phần chính: tế bào và chất nền. Tế bào xương bao gồm: nguyên bào xương, cốt bào, huỷ cốt bào và tế bào tuỷ xương. Chất nền xương bao gồm thành phần khoáng và thành phần hữu cơ. Thành phần khoáng chủ yếu là hydroxyapatite (HA) ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) và một lượng lớn bicarbonate, Mg, K, và Na. Thành phần hữu cơ: các thành phần protein collagen type I, proteoglycan và glycoprotein như osteocalcin, osteonectin [5]. Ngoài ra, chất nền xương còn chứa nhiều nhân tố tăng trưởng như FGF (fibroblast growth factors), BMP (bone morphogenetic protein growth factors), TGF- β (transforming growth factor beta), VEGF (vascular endothelial growth factor). Đối với những ca ghép dị loài, tế bào là thành phần gây đáp ứng miễn dịch trên cơ thể nhận. Xương khử tế bào có bản chất là chất nền xương tự nhiên. Do đó, xương khử tế bào có tính đáp ứng miễn dịch thấp, trong khi có cấu trúc và thành phần tương tự như chất nền xương tự nhiên. Một số nghiên cứu lâm sàng đã chứng minh xương khử tế bào kích thích quá trình lành xương như Ann Kakabadze (năm 2017), Lia Karalashvili [6]. Do đó nhiều sản phẩm xương bò khử tế bào được FDA chấp nhận như Puros® DBM, BioSet™, Grafton®, DBX®, Progenix™ Plus, Accell Connexus® & TBM®, InterGro®, Viagraf®. Phương pháp khử tế bào thường để thực hiện, quy trình đơn giản, giá thành thấp và dễ dàng ứng dụng quy mô lớn. Cho nên chúng tôi lựa chọn phương pháp này để xử lý xương bò.

Nhiều phương pháp khử tế bào được nghiên cứu: cơ học, hoá học và enzyme. Tuy nhiên, hiện nay vẫn chưa có quy trình chuẩn để khử tế bào mô, cơ quan, bao gồm mô xương. Những phương pháp khử tế bào hiện nay đều kết hợp nhiều hoá chất và phương pháp khác nhau nhằm

loại bỏ hoàn toàn tế bào và hạn chế tối thiểu lên chất nền xương. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng những hoá chất thường được sử dụng trong khử tế bào như: methanol, chloroform, SDS, nước cất và kết hợp với phương pháp khuấy lắc cơ học. Methanol là chất thuộc nhóm alcohol, trong quy trình khử tế bào, methanol thường được sử dụng để khử nước, làm tế bào biến dạng. Chloroform là dung môi hữu cơ có khả năng hoà tan thành phần lipid trong tế bào như màng tế bào, màng nhân. Việc kết hợp methanol và chloroform được sử dụng để loại bỏ mỡ trong xương và giúp loại bỏ một phần tế bào [7]. Điều này giúp làm thuận tiện cho tác dụng của SDS. SDS là chất tẩy ion mạnh, phá vỡ liên kết protein-protein, protein-DNA, loại bỏ các thành phần tế bào [2], [8]. Nước cất là dung dịch nhược trương có hiệu quả khử tế bào yếu, khi tiếp xúc với tế bào, nước di chuyển vào trong tế bào, làm tế bào phình và vỡ ra [4]. Kết quả cho thấy khi kết hợp methanol/chloroform 6 giờ hoặc 24 giờ và SDS 24 giờ cho hiệu quả khử tế bào tốt nhất. Kết quả nhuộm mô học 2 mẫu này cho thấy gần như không phát hiện tế bào trong lát cắt và bề xương vẫn giữ được cấu trúc ban đầu. Do thời gian xử lý methanol/chloroform 6 giờ ngắn hơn so với 24 giờ nên chúng tôi lựa chọn quy trình methanol/chloroform 6 giờ và SDS 24 giờ là quy trình tốt nhất.

Một trong những tiêu chí quan trọng của vật liệu ghép xương là tính tương hợp sinh học. Đầu tiên, độc tính của dCB được thử trên tế bào in vitro. Đây là bước tiêu chuẩn đầu tiên để đánh giá tính tương hợp sinh học của vật liệu ghép. Dòng nguyên bào sợi L-929, là dòng được tiêu chuẩn ISO 10993-5 đề ra để thử độc tính. Nếu bản thân dCB có độc tính, tác nhân gây độc sẽ tác động lên tế bào, tế bào có thể sẽ bị chết, co lại và bong tróc khỏi bề mặt nuôi cấy. Theo tiêu chuẩn ISO 10993-5, nếu tỉ lệ tế bào sống RGR của mẫu thí nghiệm so với đối chứng âm lớn hơn 70% thì xem là không gây độc với tế bào. Kết quả cho thấy là dCB không gây độc đối với tế bào in vitro.

V. KẾT LUẬN

Hạt xương bò vô bào được tạo thành công từ xương xốp bò bằng cách xử lý kết hợp methanol/chloroform 6 giờ và SDS 24 giờ. Hạt xương bò vô bào duy trì được cấu trúc bề xương, không chứa tế bào và không gây độc đối với tế bào in vitro. Hạt xương bò vô bào có tiềm năng ứng dụng làm vật ghép xương trong nha khoa và nên được nghiên cứu chuyên sâu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Keane, T.J., I.T. Swinehart, and S.F. Badylak, Methods of tissue decellularization used for preparation of biologic scaffolds and in vivo relevance. *Methods*, 2015. **84**: p. 25-34.
2. Wang, Y., et al., Decellularized Antler Cancellous Bone Matrix Material Can Serve as Potential Bone Tissue Scaffold. *Biomolecules*, 2024. **14**(8): p. 907.
3. Hillebrandt, K.H., et al., Strategies based on organ decellularization and recellularization. *Transplant International*, 2019. **32**(6): p. 571-585.
4. Tran, H.L.B., et al., Decellularization of Bone Tissue, in *Decellularization Methods of Tissue and Whole Organ in Tissue Engineering*, A.-M. Kajbafzadeh, Editor. 2021, Springer International Publishing: Cham. p. 225-239.
5. Lin, X., et al., The Bone Extracellular Matrix in Bone Formation and Regeneration. *Frontiers in Pharmacology*, 2020. **11**.
6. Amirazad, H., M. Dadashpour, and N. Zarghami, Application of decellularized bone matrix as a bioscaffold in bone tissue engineering. *Journal of Biological Engineering*, 2022. **16**(1): p. 1.
7. Pereira, A.R., M. Rudert, and M. Herrmann, Chapter 7 - Decellularized human bone as a 3D model to study skeletal progenitor cells in a natural environment, in *Methods in Cell Biology*, D. Caballero, S.C. Kundu, and R.L. Reis, Editors. 2020, Academic Press. p. 123-141.
8. Fernández-Pérez, J. and M. Ahearne, The impact of decellularization methods on extracellular matrix derived hydrogels. *Scientific Reports*, 2019. **9**(1): p. 14933.

ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ YẾU TỐ LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG VÀ SO SÁNH GIÁ TRỊ CÁC THANG ĐIỂM TIÊN LƯỢNG TỬ VONG Ở BỆNH NHÂN CHẢY MÁU NÃO NGUYÊN PHÁT TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH PHÚ THỌ

Nguyễn Huy Ngọc^{1,2}, Đào Quang Anh³,
Trần Quang Lục³, Hoàng Quốc Việt³

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá một số yếu tố lâm sàng, cận lâm sàng và thang điểm tiên lượng tử vong ở bệnh nhân chảy máu não nguyên phát (CMN). **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả hồi cứu trên 148 bệnh nhân CMN tại bệnh viện đa khoa tỉnh Phú Thọ từ tháng 01/2022 đến tháng 09/2024 nhằm xác định một số yếu tố tiên lượng tử vong trong 30 ngày. Sử dụng hồi quy logistic, đường cong ROC để tính giá trị tiên lượng của một số yếu tố nguy cơ tử vong, so sánh giá trị tiên lượng của các thang điểm để tìm ra thang điểm tốt nhất. **Kết quả:** Đặc điểm mẫu gồm nam (72,3%), tuổi trung bình 63,5±13,1. Tỷ lệ tử vong trong 30 ngày là 31,1%. Tỷ suất chênh cho thấy GCS≤8 (OR: 8,944; 95%CI: 1,01-79,184), giãn não thất (OR: 24,087; 95%CI: 3,798-152,775), chảy máu lan rộng (OR: 87,601; 95%CI: 6,854-1119,567) là yếu tố tiên lượng độc lập nguy cơ tử vong của bệnh nhân. Thang điểm Essen khi so sánh với thang điểm ICH, mICH, FUNC, MICH và rICH tiên lượng tử vong trong 30 ngày có AUROC lần lượt là: 0,896 so với 0,862; 0,882; 0,865; 0,821 và 0,866. Tại điểm cắt >6 có độ nhạy 75,6%; độ đặc hiệu 90,2%. **Kết luận:** Điểm GCS≤8, giãn não thất, chảy máu lan rộng là yếu tố tiên lượng độc lập nguy cơ tử

vong của bệnh nhân. Thang điểm Essen có giá trị tốt nhất xác định tiên lượng tử vong ở bệnh nhân CMN khi so sánh với thang điểm ICH, mICH, FUNC, MICH và rICH. **Từ khóa:** Chảy máu não nguyên phát, cắt lớp vi tính đa dãy, tử vong.

SUMMARY

EVALUATION OF SOME CLINICAL, PARACLINICAL FACTORS AND COMPARISON OF THE VALUES OF MORTALITY PROGNOSIS SCORES IN PATIENTS WITH INTRACEREBRAL HAEMORRHAGE AT PHU THO PROVINCIAL GENERAL HOSPITAL

Background and aims: To evaluate some clinical and paraclinical factors and mortality prognostic scores in patients with intracerebral haemorrhage. **Methods:** A retrospective descriptive study on 148 patients with intracerebral haemorrhage at Phu Tho General Hospital from January 2022 to September 2024 to identify some factors predicting mortality within 30 days. Logistic regression and ROC curves were used to calculate the prognostic value of some mortality risk factors, comparing the prognostic value of the scores with each other to find the best score. **Results:** Sample characteristics include males (72.3%), mean age 63.5±13.1. The 30-day mortality rate is 31.1%. The odds ratio showed that GCS≤8 (OR: 8.944; 95%CI: 1.01-79.184), hydrocephalus (OR: 24.087; 95%CI: 3.798-152.775), and haemorrhage expansion (OR: 87.601; 95%CI: 6.854-1119.567) were independent predictors of patient mortality. Compared with the ICH, mICH, FUNC, MICH, and rICH scores for 30-day mortality, the Essen score had AUROCs of 0.896 versus 0.862, 0.882, 0.865, 0.821, and 0.866, respectively. At the cutoff

¹Sở Y tế Phú Thọ

²Trường Đại học Y Dược - Đại học Quốc gia Hà Nội

³Bệnh viện Đa khoa tỉnh Phú Thọ

Chịu trách nhiệm nội dung: Nguyễn Huy Ngọc

Email: huyngoc888@gmail.com

Ngày nhận bài: 5.12.2024

Ngày phản biện khoa học: 14.01.2025

Ngày duyệt bài: 13.2.2025